

N° d'enregistrement

au C.N.R.S.

A.O. 5088

ARTICLE PRINCIPAL

Recouvrant en partie

LA THESE DE DOCTORAT ES SCIENCES : Physique

Présentée

A LA FACULTE DES SCIENCES

de PARIS

par

Madame Annie BOUGUERRA

pour obtenir

le grade de Docteur Es-Sciences

Sujet de la Thèse : Etude thermodynamique, à l'aide de l'anticorps anti-B (A_1O),
des antigènes B faibles et de l'antigène B induit par un chromosome "Cis A_1B ".

20 FEV. 1971

Soutenue le 22 Décembre 1970

devant la Commission d'Examen

M. WURMSER Président

Mme GANS Examineurs

M. SALMON



d'enregistrement

au C.N.R.S.

A.O. 5088

ARTICLE PRINCIPAL

Recouvrant en partie

LA THESE DE DOCTORAT ES SCIENCES : Physique

Présentée

A LA FACULTE DES SCIENCES

de PARIS

par

Madame Annie B O U G U E R R A

pour obtenir

le grade de Docteur Es-Sciences

Sujet de la Thèse : Etude thermodynamique, à l'aide de l'anticorps anti-B (A_1O),
des antigènes B faibles et de l'antigène B induit par un chromosome "Cis A_1B ".

Soutenue le 22 Décembre 1970

devant la Commission d'Examen

M. WURMSER Président

Mme GANS Examineurs

M. SALMON

Digitized by the Internet Archive
in 2026



https://archive.org/details/IA41543732_0031

MÉMOIRES ORIGINAUX

ÉTUDE THERMODYNAMIQUE, A L'AIDE D'UN ANTICORPS ANTI-B D'A₁O, DES ANTIGÈNES B PRODUITS DANS UNE INTERACTION ENTRE UNE VARIANTE FAIBLE DU GÈNE B ET LE GÈNE A₂.

Par ANNIE BOUGUERRA-JACQUET (*), M. HRUBISKO,
DENISE SALMON (**) et CH. SALMON.

I. INTRODUCTION

HRUBISKO [5] et PRODANOV [7] ont décrit une famille où un gène B faible (B₂₀ ou B_x) est transmis à travers trois générations. Ils ont constaté que l'antigène B induit subit un renforcement lorsque le gène « B₂₀ » a pour allèle A₂.

Nous avons entrepris l'étude thermodynamique, à l'aide d'un anticorps anti-B d'A₁O, des divers antigènes B faibles de cette famille.

II. MÉTHODES ET MATÉRIEL

1° *Méthodes*. La méthode de FILITTI-WURMSER et coll. [2, 3, 4, 9], légèrement modifiée, dans son interprétation mathématique [10], a été utilisée pour mesurer, à différentes températures, la variation du rapport N₄/N'₄ en fonction de Nt (N₄ exprime la quantité relative d'anticorps mise à réagir avec le nombre Nt d'hématies et N'₄ la quantité relative d'anticorps libre lorsque la réaction a atteint l'équilibre).

(*) Attachée de Recherches à l'I.N.S.E.R.M.

(**) Chargée de Recherches au C.N.R.S.

En appliquant la loi d'action de masse, et la formule de VAN T'HOFF, on peut montrer qu'à partir des pentes P_1 et P_2 mesurées aux températures absolues T_1 et T_2 , la chaleur dégagée par la réaction anticorps-antigène étudiée peut être évaluée par :

$$-\Delta H = 4,575 \times \log \frac{P_1}{P_2} \times \frac{T_1 \times T_2}{T_2 - T_1} \text{ en cal/mole.}$$

Si l'anticorps utilisé est constant, les différences observées dans les chaleurs de réaction, d'un antigène à un autre, reflètent des différences purement qualitatives entre ces antigènes; la variation des pentes selon la température définissant $-\Delta H$ est, en effet, indépendante du nombre de sites entrant en réaction.

2° *Matériel*. Les premières mesures thermodynamiques, en janvier 1968, ont porté sur l'antigène B des sujets de phénotype « B_{20} » (Gej. II₂₀ et Gej. III₈) et de phénotype « A_2B_{20} » (Gej. II₁₆).

De nouveaux prélèvements, en décembre 1968, ont permis de confirmer, à l'aide des hématies Gej. II₂₀ et Gej. II₁₆, les résultats obtenus.

Nous avons utilisé pour toutes nos mesures le même sérum anti-B (A_1O) Lib., non immun et inactivé 50 minutes à 56°C avant utilisation.

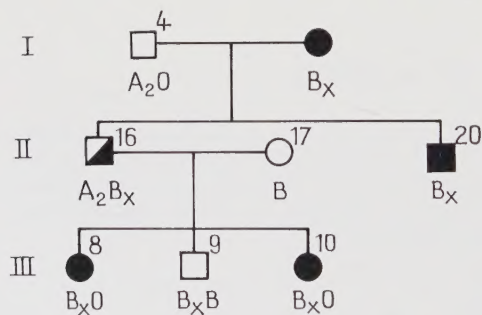
III. RÉSULTATS

1° ANTIGÈNE B INDUIT PAR LE PHÉNOTYPE « B_{20} »

Les résultats expérimentaux sont rassemblés dans le tableau I et la figure 1.

TABLEAU I

Echantillons	Date du prélèvement	T°	N ₄	N _t	N' ₄	N ₄ /N' ₄	P
II ₂₀	Janvier 1968.	4°C	412	553	372	1,107	0,0194
		4°C	412	994	395	1,043	0,00432
		25°C	412	994	412	1	0
	Décembre 1968.	4°C	405	823	376	1,077	0,00935
		25°C	405	823	377	1,074	0,00899
		4°C	405	934	373	1,086	0,0092
		25°C	405	934	370	1,094	0,0100
III ₈	Janvier 1968.	4°C	412	969	379	1,087	0,00898
		25°C	412	969	449	≤ 1	≤ 0



L'arbre généalogique montre que les sujets II₂₀ et III₈ possèdent le même gène « B_{20} » apparié à O.

Les valeurs des pentes de l'antigène B induit sont extrêmement faibles, aussi bien à 4° C qu'à

Famille Gej...
(fragment de l'arbre généalogique).

25° C, et ne diffèrent pas entre elles. Les points obtenus sont pratiquement situés sur une droite parallèle à l'abscisse. Il serait donc illusoire de tenter de calculer la pente de la droite de régression. Nous pouvons seulement conclure que la pente, vis-à-vis de l'anticorps $\beta(A_1O)$ Lib., des antigènes B des sujets Gej. II₂₀ et Gej. III₈, n'est mesurable ni à 4° C ni à 25° C, et que ces deux antigènes se comportent de façon analogue. Par conséquent, il n'est pas possible de mesurer, par nos méthodes, la chaleur dégagée lors de la combinaison de l'anticorps anti-B(A₁O) avec l'antigène B induit par le phénotype « B₂₀ ».

ANTIGÈNE B INDUIT PAR LE PHÉNOTYPE « A₂B₂₀ »

Les résultats obtenus sur les deux prélèvements d'hématies « A₂B₂₀ » Gej. II₁₆ sont indiqués au tableau II et sur la figure 1.

TABLEAU II

Température	Date du prélèvement	N ₄	Nt	N' ₄	N ₄ /N' ₄	P
25°C	Janvier 1968.	412	405	326	1,263	0,0649
		480	549	348	1,379	0,0691
		577	549	402	1,435	0,0793
		480	658	332	1,446	0,0678
		480	753	285	1,684	0,0815
	Décembre 1968.	416	335	308,5	1,348	0,1038
		416	444	296	1,405	0,0913
		416	478	277	1,502	0,105
		456	627	280	1,628	0,100
		456	683	286	1,594	0,087
		456	731	261,5	1,744	0,1017
		456	809	262	1,740	0,091
	Pente de la droite de régression : $\frac{N_4/N'_4 - 1}{Nt \times 10^{-5}} = 0,0947 \pm 0,016$					
4°C	Janvier 1968.	412	405	250	1,648	0,160
		480	523	248	1,935	0,179
		480	658	242	1,983	0,149
		480	766	219	2,192	0,156
		360	866	161	2,236	0,143
	Décembre 1968.	416	478	233	1,785	0,164
		456	627	208,5	2,187	0,189
		456	731	211	2,161	0,159
		456	809	182	2,505	0,186
	Pente de la droite de régression : $\frac{N_4/N'_4 - 1}{Nt \times 10^{-5}} = 0,148 \pm 0,028$					

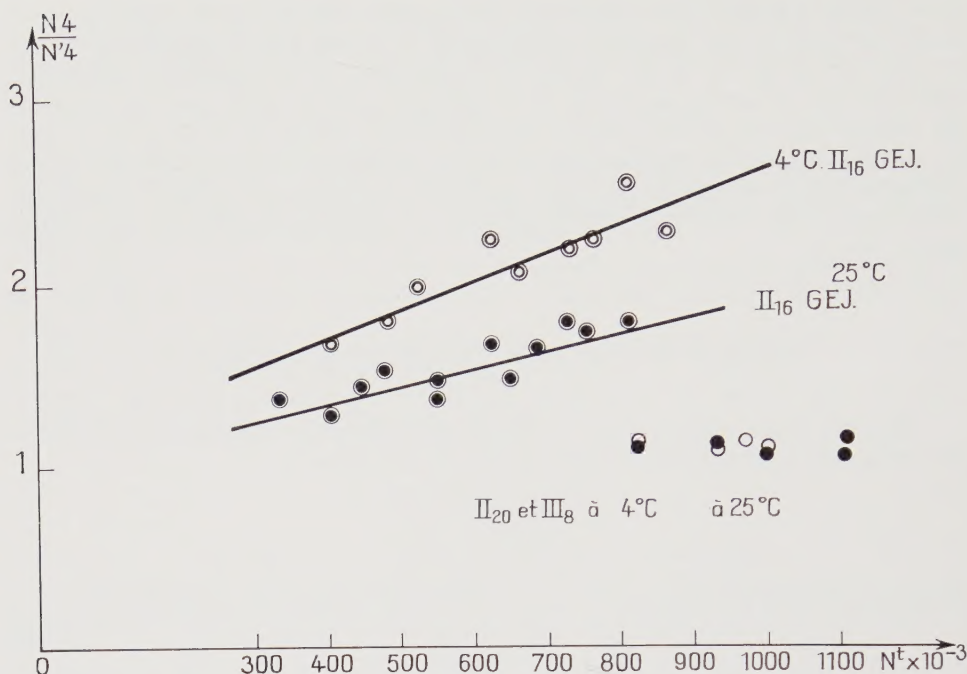


FIG. 1.

On constate que les pentes, à 4° C et à 25° C, de l'antigène B du sujet Gej. II₁₆ sont mesurables et significativement différentes de zéro. Les pentes et la chaleur dégagée par la réaction de cet antigène B avec l'anticorps anti-B d'A₁O Lib., sont :

$$b_{4^{\circ}\text{C}} = 0,148 \pm 0,028$$

$$b_{25^{\circ}\text{C}} = 0,0947 \pm 0,016$$

$$-\Delta H = 4,575 \times \log \frac{b_4}{b_{25}} \times \frac{277 \times 298}{21}$$

$$\text{soit } -\Delta H = 3\,500 \text{ cal/mole}$$

IV. DISCUSSION

Lors de l'étude de l'antigène B des hématies B, A₁B et A₂B [8], on a constaté une différence quantitative entre l'antigène B des hématies B et A₂B d'une part, et A₁B d'autre part; les chaleurs de réaction de ces trois variétés d'antigène B, mesurées par l'anti-B (A₁O) Lib., varient de 17 000 à 21 000 cal/mole, valeurs qui ne sont pas statistiquement différentes, et n'apportent pas d'argument décisif en faveur d'une différence qualitative entre ces antigènes B.

Avec les antigènes B des sujets « B_{20} » et « A_2B_{20} » de la famille Gej., nous nous trouvons en présence d'un phénomène particulier : l'exclusion de paternité ayant été rejetée, un même antigène B induit deux antigènes B différents suivant que l'allèle de « B_{20} » est O ou A_2 . Les mesures de pourcentages d'agglutination effectuées par HRUBISKO [5] et PRODANOV [7] ont confirmé l'existence de différences quantitatives entre l'antigène B des sujets « B_{20} » et l'antigène B des sujets « A_2B_{20} », comme le rappelle le tableau suivant :

Phénotype	B_3O	A_2B_3	B et A_2B
% d'agglutination par anti-B.	20	74	92

Il était, a priori, possible de déceler, à l'aide des mesures de pentes et de chaleur de réaction vis-à-vis d'un anti-B (A_1O), une différence qualitative entre ces antigènes. En fait, comme l'indiquent les résultats, il a seulement été possible de mesurer les pentes, donc la chaleur de réaction, de l'antigène B du sujet « A_2B_{20} » Gej. II₁₆.

Les valeurs de pentes de l'antigène « B_{20} » des sujets Gej II₂₀ et III₈ sont trop faibles pour que l'on puisse calculer le $-\Delta H$. Cependant, si la chaleur de réaction de cet antigène B_{20} était de même ordre que celle de l'antigène B du sujet de génotype « A_2B_{20} » Gej. II₁₆, nous devrions observer une légère variation entre les pentes, à 4° C et à 25° C, de Gej. III₈ et II₂₀. Ce n'est pas le cas. C'est pourquoi, bien que nous ne puissions l'affirmer avec certitude, nous pensons qu'une différence d'ordre qualitatif est probable entre l'antigène B induit dans le phénotype « B_{20} » Gej., et celui induit par le phénotype « A_2B_{80} » Gej.

INTERPRÉTATION GÉNÉTIQUE

Les variations quantitatives mises en évidence dans le cas d'interaction allélique peuvent s'expliquer par une compétition entre les enzymes lors de la conversion du substrat H. Cette explication est valable pour les antigènes B induits par les phénotypes B, A_1B et A_2B : l'antigène B induit est dans les trois cas « normal », mais peut être synthétisé en plus ou moins grande quantité.

Dans le cas de la famille Gej..., les études de HRUBISKO et PRODANOV ont montré que l'antigène « B_{20} » correspond à un antigène partiel, car les sujets de phénotype « B_{20} » possèdent un anticorps anti-B qui reconnaît les antigènes B à l'exception de l'antigène « B_{20} » Gej. Il semble donc que ces sujets fabriquent un anticorps contre la fraction d'antigène B qui leur manque. Par contre, lorsque le gène « B_{20} » a pour allèle le gène A_2 , l'antigène B induit est pratiquement normal, et on n'a pas pu déceler d'agglutinines anti-B dans le sérum. Il ne s'agit donc plus ici d'antigène B normal synthétisé en plus ou moins grande quantité, mais bien, quand

l'allèle est O, d'un antigène B faible et partiel, et quand l'allèle est A_2 , d'un antigène B presque normal. Si l'on admet que les locus A et B sont hétérogènes, composés d'unités fonctionnelles et non fonctionnelles, il manquerait au gène « B_{20} » au moins une unité fonctionnelle.

A partir de l'hétérogénéité fonctionnelle du locus ABO, décelable par exemple par l'étude des antigènes induits par le chromosome « cis A_1B » Ren. [1], plusieurs hypothèses peuvent être discutées.

a) Le gène O étant non fonctionnel, le gène « B_{20} » Gej. ne pourrait s'exprimer lorsqu'il a pour allèle O. Par contre, lorsque son allèle est A_2 , le gène « B_{20} » Gej. rencontrerait en position trans, au locus A_2 , l'unité fonctionnelle qui lui manque et il pourrait ainsi s'exprimer presque normalement.

b) Si l'on peut admettre, comme HRUBISKO [5], que les locus A et B sont hétérogènes et formés de sous-unités fonctionnelles, il est possible, ainsi que le suggère HUMMEL [6], qu'une au moins des sous-unités soit commune à A et B. Chez les sujets normaux, l'enzyme ou les enzymes produits par la sous-unité commune à A et B agiraient sur le substrat H, et fourniraient un substrat commun sur lequel agiraient ensuite successivement, et respectivement, les autres sous-unités de A et B. Si le locus « B_{20} » ne peut produire le substrat commun sur lequel viendraient agir les autres sous-unités du locus B, par contre, chez le sujet « A_2B_{20} » l'allèle A_2 possède la sous-unité commune. Il y a donc production du substrat commun, ce qui permet au reste du locus B présent chez le « B_{20} » Gej. de s'exprimer et de produire ainsi une certaine quantité de substrat B, inférieure cependant à ce que l'on peut observer chez un sujet A_2B normal.

CONCLUSION

L'étude de HRUBISKO et coll. [5] a montré qu'il existe une différence quantitative entre l'antigène B induit par le gène « B_{20} » Gej. et l'antigène B induit par le même gène, mais apparié au gène A_2 . Dans ce dernier cas, l'antigène B induit est fortement renforcé.

Les mesures thermodynamiques ont été utilisées pour rechercher une différence qualitative entre ces antigènes B. Si la chaleur de réaction de l'antigène B des hématies « A_2B_{20} » Gej vis-à-vis de l'anti-B (A_1O) est bien mesurable et égale à 3 500 cal/mole, par contre celle de l'antigène B des hématies « B_{20} » Gej. ne peut être déterminée, les pentes mesurées étant pratiquement nulles; bien qu'une différence d'ordre qualitatif ne soit nullement exclue par ces résultats, elle ne peut cependant être démontrée.

SUMMARY

To conclude : The work of HRUBISKO et al. [5] showed that there is a quantitative difference between the B antigen induced by the Gej. « B_{20} » gene and the B antigen induced by the same gene when coupled to the A_2 gene. In the latter, the induced B antigen is considerably stronger.

Thermodynamic measurements were used to search for qualitative differences between such B antigens. Whereas the heat of reaction of the B antigen in Gej. « A₂B₂₀ » red cells with anti-B (A₁O) is actually measurable, amounting to 3 500 cal/mole, that of the B antigen in Gej. « B₂₀ » red cells cannot be evaluated, for the measured slopes are practically null. Although a qualitative difference can by no means be excluded by those results, it was not demonstrated.

(Groupe de Recherches U76 de l'INSERM
sur les Groupes sanguins et l'Immuno-hématologie,
53, boulevard Diderot, F.75-Paris, 12°.)

RÉFÉRENCES

1. BOUGUERRA-JACQUET (A.), REVIRON (J.), SALMON (D.) et SALMON (CH.) : Un exemple de chromosome « cis A₁B ». Etude thermodynamique de l'antigène B induit. *N. R. F. Hémat.*, **9**, 329, 1969.
2. FILITTI-WURMSER (S.) et JACQUOT-ARMAND (Y.) : Etude quantitative de l'isohémagglutination. *Arch. Sci. Physiol.*, **1**, 151, 1947.
3. FILITTI-WURMSER (S.), JACQUOT-ARMAND (Y.) et WURMSER (R.) : L'énergie de liaison de l'isohémagglutinine aux hématies. *C. R. Acad. Sci.*, **226**, 884, 1948.
4. FILITTI-WURMSER (S.), JACQUOT-ARMAND (Y.) et WURMSER (R.) : Sur la combinaison des isohémagglutinines avec les groupes agglutinogènes. *J. Chim. Physiol.*, **47**, 419, 1950.
5. HRUBISKO (M.) : Exemple d'une interaction allélique chez l'homme; interaction entre une variante du gène B (B_x ou B₂₀) et A₂. *N. R. F. Hémat.*, **8**, 278, 1968.
6. HUMMEL (K.) : Ueber A Untergruppen und schwache A Eigenschaften. *Artztl. Lab.*, **11**, 221, 1965.
7. PRODANOV : à paraître dans *N. R. F. Hémat.*
8. REVIRON (J.), JACQUET (A.), DELARUE (F.), LIBERGE (G.), SALMON (D.) et SALMON (CH.) : Interactions alléliques des gènes de groupes sanguins ABO. Résultats préliminaires avec l'anti-B d'un sujet « cis AB » et étude quantitative avec l'anti-B d'un sujet A₁O. *N. R. F. Hémat.*, **7**, 425, 1967.
9. SALMON (CH.) : Etude quantitative et thermodynamique de l'isohémagglutination. Méthodes et résultats récents. *N. R. F. Hémat.*, **5**, 191, 1965.
10. SALMON (CH.) et HAUTENAUVE (M.) : Etude thermodynamique de l'anticorps anti-B des sujets de phénotype A_x. *N. R. F. Hémat.*, **1**, 847, 1961.

